

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
”ПОЛЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ“

Кафедра биотехнологии  
(название кафедры)

Допущено к защите  
Заведующий кафедрой  
\_\_\_\_\_ Е.М. Волкова  
\_\_\_\_\_ 2022

ДИПЛОМНЫЙ ПРОЕКТ (РАБОТА)  
на тему: “АСЕПТИЧЕСКОЕ ВВЕДЕНИЕ, СТАБИЛИЗАЦИЯ И  
РАЗМНОЖЕНИЕ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* НА БАЗЕ КФХ  
“ЯГОДКА” И ОЛ “ДНКиКТРиЖ” УО ПолесГУ

Студент \_\_\_\_\_  
1–31 01 01–01 ,5 курс, гр. 17БТ–2 (подпись)  
(специальность, курс, группа)

Т.Р. Батура  
\_\_\_\_\_ 2022

Научный руководитель \_\_\_\_\_  
Старший преподаватель (подпись)  
(должность, ученая степень, ученое звание)

Н.В. Водчиц  
\_\_\_\_\_ 2022

## РЕФЕРАТ

**Дипломная работа:** 40 стр., 3 ч., 9 рис., 5 табл., 44 источников, 3 приложения.

**Ключевые слова:** ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ, МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ, СТЕРИЛИЗАЦИЯ, ЭКСПЛАНТЫ, РЕГЕНЕРАЦИЯ, ВИНОГРАД.

Объектом исследования являлись экспланты, витропланты и регенеранты винограда, сорт Бианка.

**Цель работы** – подбор оптимальных питательных сред на этапах введения, стабилизации, регенерации и укоренения винограда в культуре *in vitro*.

### **Задачи:**

- 1) отработка этапов стерилизации для успешного введения винограда в культуру *in vitro*;
- 2) подбор оптимальных сред на этапе культивирования первичных эксплантов;
- 3) подбор сред для высокого коэффициента размножения регенерантов;
- 4) подбор сред для повышения укореняемости регенерантов.

**Методы исследования:** экспериментальные, статистические.

В результате исследований был проведен подбор ряда технологий, повышающих эффективность различных этапов клонального микроразмножения винограда: подбор оптимальных сред на этапе культивирования первичных эксплантов, подбор сред для высокого коэффициента размножения регенерантов, подбор сред для повышения укореняемости регенерантов.

**Степень внедрения** – по данной технологии в отраслевой лаборатории “ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве” УО “Полесский государственный университет” на сегодняшний день создана коллекция стабилизированного *in vitro* винограда, сорт Бианка (приложение А); произведено регенерантов – 1800 шт. и 1000 шт. адаптантов; для реализации выполнена калькуляция получения разновозрастного посадочного материала.

Результаты исследований внедрены в учебный процесс УО “Полесский государственный университет” при профессиональной подготовке студентов по специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология) и магистрантов по специальности 1-31 81 11 Микробиология (профилизация "Прикладная биотехнология") (приложение Б,В).

**Область применения:** биотехнология, физиология растений, сельское хозяйство.

## ABSTRACT

**Thesis:** 40 pages, 3 hours, 9 figures, 5 tables, 44 sources, 3 appendices.

**Key words:** NUTRIENT MEDIA, MICROCLONAL REPRODUCTION, STERILIZATION, EXPLANTS, REGENERATION, GRAPES.

The object of the study were explants, vitroplants and regenerated grapes, Bianca variety.

**The purpose** of the work is the selection of optimal nutrient media at the stages of introduction, stabilization, regeneration and rooting of grapes in in vitro culture.

**Tasks:**

- 1) working out the stages of sterilization for the successful introduction of grapes into in vitro culture;
- 2) selection of optimal media at the stage of cultivation of primary explants;
- 3) selection of media for a high multiplication factor of regenerants;
- 4) selection of media to increase the rooting of regenerants.

Research methods: experimental, statistical.

**As a result of the research**, a number of technologies were selected that increase the efficiency of various stages of clonal micropropagation of grapes: the selection of optimal media at the stage of cultivation of primary explants, the selection of media for a high multiplication factor of regenerants, the selection of media to increase the rooting of regenerants.

**Application area:** biotechnology, plant physiology, agriculture.

# СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ И УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	6
<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>7</b>
<b>ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>8</b>
1.1. Биотехнология в селекции растений.....	8
1.2. История развития культивирования <i>in vitro</i> и области его применения.....	9
1.3. Основные этапы микрклонального размножения растений.....	11
1.4 Факторы, влияющие на эффективность клонального микроразмножения.....	16
1.5 Составы питательных сред. Характеристика фитогормонов добавляемых в среду для культивирования растений.....	18
1.6 Этап пролиферации растений.....	20
1.7 Этап ризогинеза растений.....	21
1.8 Характеристика винограда сорт Бианка.....	15
1.9 ПЕРСПЕКТИВЫ ВЫРАЩИВАНИЯ ВИНОГРАДА В БЕЛАРУСИ	22
<b>ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>25</b>
2.1 Объект исследований.....	25
2.2 Подготовка и стерилизация исходного материала.....	25
2.3 Составы питательных сред для работы с культурами <i>in vitro</i> .....	25
2.4 Условия культивирования.....	27
2.5 Учёт и методы обработки полученных данных.....	27
<b>ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>28</b>
3.1 Стерилизация растительных эксплантов.....	28
3.2 Адаптация, регенерация и укоренение растений винограда.....	29
3.3 Экономическая эффективность.....	34
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>35</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....</b>	<b>36</b>
<b>СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ НАУЧНЫХ РАБОТ.....</b>	<b>40</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ А.....</b>	<b>41</b>

<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Б</b> .....	43
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ В</b> .....	44

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Батукаев, А. А. Использование регуляторов роста в системе производства оздоровленного посадочного материала винограда / А. А. Батукаев, А. А. Зармаев, М. С. Батукаев // Труды БГУ. – 2013. Ч 2. – С. 43–47.
2. Олешук, Е. Н. Виноградарство в Беларуси: состояние и перспективы / Е. Н. Олешук // Наше сельское хозяйство. – 2013. – №7. С. 94–99.
3. Козловская, З. А. Интродукция винограда и перспективы его выращивания в Беларуси / З. А. Козловская, А. В. Бут-Гусаим, В. Н. Устинов // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. – 2009. – №1. – С. 37–43.
4. Дорошенко, Н. П. Особенности микроклонального размножения интродуцентов и клонов винограда / Н. П. Дорошенко // Научный журнал КубГАУ. – 2008. – №40(6). – С. 154–172.
5. Муромцев, Г. С. Основы сельскохозяйственной биотехнологии / Г. С. Муромцев. – М. : Наука, 1990. – 384 с.
6. Сидоров В. А. Биотехнология растений. Клеточная селекция / В. А. Сидоров. – М. : Наука, 1990. – 280 с.
7. Цыренов, В. Ж. Основы биотехнологии: Культивирование изолированных клеток и тканей растений : учеб. пособие / В. Ж. Цыренов. – Улан-Удэ : ВСГТУ, 2003. – Ч. 2. – 48 с.
8. Мурашкина, И. А. Использование культуры клеток растений в биотехнологии лекарственных средств. : учеб. пособие / И. А. Мурашкина, И. Б. Васильев, В. В. Гордеева. – Иркутск : ИГМУ, 2015. – 76 с.
9. Горбунов, В. А. Микробиологические основы противомикробных мероприятий : учеб. пособие / В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова. – Минск : БГМУ, 2006. – 55 с.
10. Lebed, M. B. Study of various methods efficiency for sterilizing potato exsplantsat microklonalonalreproduction / M. B. Lebed // Agricultural sciences. – 2019. – № 9. – P. 26–30.
11. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе : учеб. пособие / Р. Г. Бутенко. – Москва : МГУ им М. В. Ломоносова, 1999. – 152 с.
12. Никонович, Т. В. Биотехнология в растениеводстве : учеб. пособие / Т. В. Никонович, А. Н. Иванистов, В. В. Французёнок. – Горки : БГСХА, 2007. – 58 с.
13. Лойко, Р. Э. Северный виноград / Р. Э. Лойко. – Минск. : Издательский Дом МСП, 2005. – 256 с.

14. Высоцкий, В. А. Клональное микроразмножение растений / В. А. Высоцкий // Культура клеток растений и биотехнология. – М. : Наука, 1986. – С. 91–102.
15. Простосердов, Н. Н. Изучение винограда для определения его использования / Н. Н. Простосердов. – Минск : Лазурак, 1963. – 358 с.
16. Тимофеева, О. А. Клональное микроразмножение растений : учеб. пособие / О. А. Тимофеева, Ю. Ю. Невмержицкая. – Казань : Казанский федеральный университет, 2012. – 59 с.
17. Катаева, Н. В. Клональное микроразмножение растений : учеб.-метод. пособие / Н. В. Катаева, Р. Г. Бутенко. – Москва : Наука, 1983. – 96 с.
18. Деменко, В. И. Микрклональное размножение садовых растений : учеб. пособие / В. И. Деменко. – Москва : ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА, 2007. – 55 с.
19. Кошкин, Е. И. Физиологические основы качества продукции цветоводства : учеб. пособие / Е. И. Кошкин, В. Н. Адрианов, О. Ф. Панфилова. – М. : Издательство РГАУ–МСХА, 2012. – 185 с.
20. Дышко, В. Н. Клеточная и тканевая биотехнология в растениеводстве : учеб. метод. пособие / В. Н. Дышко. – Смоленск : Смоленская государственная сельскохозяйственная академия, 2014. – 70 с.
21. Основы биотехнологии растений : учеб. пособие / Б. Р. Кулуев [и др.]. – Уфа : Ринц БашГУ, 2017. – 245 с.
22. Новиков, Д. А. Выделение и очистка продуктов биотехнологии : метод. пособие / Д. А. Новиков. – Минск : БГУ, 2014. – 235 с.
23. Skoog, F. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultures *in vitro* / F. Skoog, C. O. Miller // Symp. Soc. Exp. Biol. – 1957. –Vol. 11. – P.118–131.
24. Бабынин, В. Э. Микрклональное размножение садовых растений : учеб. пособие / В. Э. Бабынин. – Москва : ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА, 2009. – 105 с.
25. Биотехнология растений / Л. В. Назаренко [и др.]. – Москва : Юрайт, 2018 – 124 с.
26. Блажевич, О. В. Культивирование клеток : учеб. пособие / О. В. Блажевич. – Минск : БГУ, 2004. – 79 с.
27. Широков, А. И. Основы биотехнологий растений : учеб.-метод. пособие / А. И. Широков, Л. А. Крюков – Нижний Новгород : Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, 2012. – 49 с.
28. Дитченко, Т. И. Рост, развитие и основы биотехнологии растений : учеб. пособие / Т. И. Дитченко. – Минск : БГУ, 2014. – 56 с.
29. Борзенкова, Р. А. Методы определения фитогормонов : твердофазный иммуноферментный анализ абсцизовой кислоты, ауксинов и

цитокининов : учеб. пособие / Р. А. Борзенкова. – Екатеринбург : Издательство Уральского университета, 2016. – 156 с.

30. Высоцкий, В. А. Клональное микроразмножение жимолости в производственных условиях / В.А. Высоцкий, В.А. Валиков // Садоводство и виноградарство. – 2014. – №6. – С.18–29.

31. Онтогенез / В. И. Кефели [и др.]. – М. : Наука, 1970. – 158 с.

32. Фаустов, В. В. Биологические основы технологии зеленого черенкования садовых культур : автореф. дис. ... д-ра. с.-х. наук : 06.01.07 / В. В. Фаустов : Рос. акад. наук. – М., 1991. – 335 с.

33. Деменко, В. И. Укоренение – ключевой этап размножения растений *in vitro* / В. И. Деменко, К. А. Шестибратов, В.Г. Лебедев // Известия ТСХА, 2010. – № 1. – С. 73–85.

34. Jones, O. P. Propagation *in vitro* of brut trees / O. P. Jones, H. E. Yorgoot, D. O' Farrel // Rep. Edest. Mallng Res. Stn. – 1976. – P. 79–83.

35. Бунцевич, Л. Л. О методах клонального микроразмножения садовых растений в системе *in vitro* / Л. Л. Бунцевич, О. С. Растегаева, О. Ю. Чиркина // Садоводство и виноградарство (Краснодар). – 1999. – № 21. – С. 218–220.

36. Дорошенко, Н. П. Особенности микроклонального размножения интродуцентов и клонов винограда / Н. П. Дорошенко // Научный журнал КубГАУ. – 2008. – №40(6). – С. 154–172.

37. Lebed, M. B. Study of various methods efficiency for sterilizing potato exsplantsat microklonalonal reproduction / M. B. Lebed // Agricultural sciences. – 2019. – № 9. – P. 26–30.

38. Таланова, В. В. Фитогормоны как регуляторы устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 27.03.2009 / В. В. Таланова ; институт биологии Карельского научного центра РАН. – Петрозаводск, 2009. – 245 с.

39. Lisek, J. Amatorska uprawa winorosli / J. Lisek. – Warszawa : “Dzialkowiec” Sp. z o.o., 2002. – 128 s.

40. Виноград: перспективные и новые сорта с элементами агротехники / И. А. Кострикин [и др.]. – Ростов : Одесса; Запорожье, 2001. – 184 с.

41. Виноградарство / И. П. Барабаш [и др.]. – Ставрополь : ФГБОУ ВПО "Ставропольский государственный аграрный университет", 2014. – 123 с.

42. Крестьянское фермерское хозяйство «Ягодка» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://yagodka.by/> – Дата доступа: 01.04.2022

43. Тимофеева, С. Н. Технологии микроразмножения *in vitro* : учеб. пособие / С. Н. Тимофеева, Ю. В. Смолькина. – Саратов : Саратовский гос. ун-т, 2016. – 65 с.



44. Сидоров, В. А. Биотехнология растений. Клеточная селекция / В. А. Сидоров. – М. : Наука, 1990. – 280 с.